

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されて
いる事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed
with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 3月21日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-078775

出 願 人

Applicant(s):

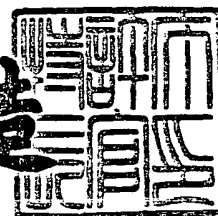
日本ケミカルリサーチ株式会社

COPY

2001年 3月 2日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3013320

【書類名】 特許願

【整理番号】 P89-00

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県神戸市須磨区菅の台1丁目3-20

【氏名】 破入 洋誠

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県芦屋市岩園町19-22-106

【氏名】 岡田 麗理子

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県神戸市垂水区西舞子8丁目20-34

【氏名】 進藤 千尋

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県神戸市東灘区住吉本町3丁目10-26-103

【氏名】 西室 悟司

【特許出願人】

【識別番号】 000228545

【氏名又は名称】 日本ケミカルリサーチ株式会社

【代理人】

【識別番号】 100104639

【弁理士】

【氏名又は名称】 早坂 巧

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 063326

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

特2000-078775

【包括委任状番号】 9803334

【プルーフの要否】 要

書類名] 明細書
 発明の名称] 活性ペプチド含有粉末製剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】

活性ペプチドを含有する水性液体を乾燥させて該活性ペプチド含有の粉末製剤を製造するに際し、該活性ペプチドを安定化させるための方法であって、該水性液体に、非イオン性界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、及び／又は水素添加レシチンを含有させることを特徴とするものである方法。

【請求項2】

活性ペプチドを含有する水性液体を乾燥させて該活性ペプチド含有の粉末製剤を製造するに際し、該活性ペプチドを安定化させるための方法であって、該水性液体に、非イオン性界面活性剤0.01～0.5重量%、水溶性の非イオン性有機結合剤0.01～1重量%、及び／又は水素添加レシチンを含有させることを特徴とするものである方法。

【請求項3】

該水溶性の非イオン性有機結合剤が、ポリビニルピロリドン、水溶性の非イオン性セルロース誘導体及びポリビニルアルコールよりなる群より選ばれるものである、請求項1又は2の方法。

【請求項4】

該水溶性の非イオン性セルロース誘導体が、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース及びヒドロキシプロピルメチルセルロースよりなる群より選ばれるものである、請求項3の方法。

【請求項5】

該非イオン性界面活性剤が、ポリソルベート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油及びポリオキサマーよりなる群より選ばれるものである、請求項1ないし4の何れかの方法。

【請求項6】

該水性液体の乾燥が、噴霧乾燥、凍結乾燥、噴霧凍結乾燥、若しくは流動層コーティングであってよいコーティングにより又は流動層造粒に際してなされるも

のである、請求項 1 ないし 5 の何れかの方法。

【請求項 7】

該活性ペプチドが、カルシトニン類、インスリン類、成長ホルモン類、ソマトスタチン、ソマトスタチン誘導体、インターフェロン、インターロイキン、スーパーオキシドジスムターゼ、ウロキナーゼ、プロテアーゼ、腫瘍壊死因子、コロニ-形成刺激因子、カリクレイン、リゾチーム、フィブロンネクチン、インスリン様増殖因子、上皮増殖因子、繊維芽細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、神経成長因子、肝細胞増殖因子、血管新生因子及び血管新生阻害因子よりなる群より選ばれるものである、請求項 1 ないし 6 の何れかの方法。

【請求項 8】

活性ペプチドを含有する水性液体に、非イオン性界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、及び／又は水素添加レシチンを含有させ、該水性液体を乾燥させる工程を経て得られる、活性ペプチド含有の粉末製剤。

【請求項 9】

活性ペプチドを含有する水性液体に、非イオン性界面活性剤 0.01～0.5 重量%、水溶性の非イオン性有機結合剤 0.01～1 重量%、及び／又は水素添加レシチンを含有させ、該水性液体を乾燥させる工程を含む、活性ペプチド含有の粉末製剤。

【請求項 10】

該水溶性の非イオン性有機結合剤が、ポリビニルピロリドン、水溶性の非イオン性セルロース誘導体及びポリビニルアルコールよりなる群より選ばれるものである、請求項 8 又は 9 の粉末製剤。

【請求項 11】

該水溶性の非イオン性セルロース誘導体が、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース及びヒドロキシプロピルメチルセルロースよりなる群より選ばれるものである、請求項 10 の粉末製剤。

【請求項 12】

該非イオン性界面活性剤が、ポリソルベート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油及びポロキサマーよりなる群より選ばれるものである、請求項 8 ないし 11 の

何れかの粉末製剤。

【請求項13】

該水性液体の乾燥が、噴霧乾燥、凍結乾燥、噴霧凍結乾燥、若しくは流動層コーティングであってよいコーティングにより又は流動層造粒に際してなされるものである、請求項8ないし12の何れかの粉末製剤。

【請求項14】

該活性ペプチドが、カルシトニン類、インスリン類、成長ホルモン類、ソマトスタチン、ソマトスタチン誘導体、インターフェロン、インターロイキン、スーパーオキシドジスムターゼ、ウロキナーゼ、プロテアーゼ、腫瘍壊死因子、コロニ-形成刺激因子、カリクレイン、リゾチーム、フィブ्रोネクチン、インスリン様増殖因子、上皮増殖因子、繊維芽細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、神経成長因子、肝細胞増殖因子、血管新生因子及び血管新生阻害因子よりなる群より選ばれるものである、請求項8ないし13の何れかの粉末製剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、活性ペプチド含有の粉末製剤に関し、より詳しくは、活性ペプチド含有の水性液体中を乾燥させて粉末化する工程において、活性ペプチドの変性を防止して安定化することにより、変性ペプチドの混在を抑えた粉末ペプチド製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

これまで、活性ペプチド含有の医薬品は、注射により投与されてきた。その関係上、それらの製剤の製造には凍結乾燥が専ら用いられてきた。このため、それらの製剤において、主薬である活性ペプチドの安定化についての研究は、完成品である製剤の乾燥状態における活性ペプチドの長期保存安定性、及び乾燥したペプチド含有組成物を溶解した後の液体中での活性ペプチドの保存安定性に、これまで集中してきた。例えば、カルシトニン溶液の安定化については、特開平7-179364号公報、特開平7-188060号公報、特表平7-188061号公報等に、また、成長ホ

ルモン凍結乾燥品の安定化については、特表平10-504531号公報、特表平10-511965号公報、特表平10-507183号公報等に開示されている。

【0003】

一方、薬物を全身投与するに当たって、注射剤、内服剤、坐剤等の従来の製剤と異なった新たな投与経路を利用する製剤として、経鼻及び経肺製剤等が研究されている。これらの製剤は、体内に直接注入するものでなく、気道粘膜等、外気に接する粘膜表面に適用されるため、微生物学的品質基準は注射剤に比して緩やかである。このため、その製造には、凍結乾燥装置を用い得ることは勿論、それ以外に流動層造粒装置、噴霧乾燥装置、噴霧凍結乾燥装置等の製造装置も用い得る。これら流動層造粒装置、噴霧乾燥装置、噴霧凍結乾燥装置を用いた製剤の製造段階における活性ペプチドの安定化に関しては、メイラード反応に対する阻害剤を添加することで安定性を確保することが報告されている（特表平10-505591号公報）。しかし、製造段階における活性ペプチドの安定化は、もし可能であるなら、医薬品添加物として現在許可されており、安全性が高く、長年の使用実績のある添加物を用いて行う方が、得られる医薬品につき高い安全性が期待できるという点で、好ましい。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

上記背景の下で、本発明は、活性ペプチドを含有する水性液体を乾燥させて粉末化する工程における活性ペプチドの安定性を改善する方法、及び該方法により製造される、活性ペプチド含有の粉末製剤を提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者は、活性ペプチド含有の粉末製剤を製造するに当たり、活性ペプチド含有水性液体を乾燥させて活性ペプチド含有粉末を製造する工程において、所定の化合物を該水性液体に加えておくことにより、粉末化に際して活性ペプチドの安定性が著しく高められることを見出し、更に検討の結果、本発明を完成させた。

【0006】

すなわち本発明は、活性ペプチドを含有する水性液体を乾燥させて該活性ペプチド含有の粉末製剤を製造するに際し、該活性ペプチドを安定化させるための方法であって、該水性液体に、非イオン性界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、及び／又は水素添加レシチンを含有させることを特徴とするものである方法を提供する。

【0007】

該安定化方法において、非イオン性界面活性剤又は水溶性の非イオン性有機結合剤を該水性液体中に含有させるに際して、高い安定化効果が発揮される濃度範囲は、非イオン性界面活性剤については0.01~0.5重量%、水溶性の非イオン性有機結合剤については0.01~1重量%である。

【0008】

更に本発明は、活性ペプチドを含有する水性液体に、非イオン性界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、及び／又は水素添加レシチンを含有させ、該水性液体を乾燥させる工程を経て得られる、活性ペプチド含有の粉末製剤をも提供する。

【0009】

該粉末製剤において、非イオン性界面活性剤又は水溶性の非イオン性有機結合剤を該水性液体中に含有させるに際して、高い安定化効果が発揮される濃度範囲は、非イオン性界面活性剤については0.01~0.5重量%、水溶性の非イオン性有機結合剤については0.01~1重量%である。

【0010】

本発明によれば、活性ペプチドを含有する水性液剤から粉末化する工程において安定化剤として機能する非イオン性界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、及び／又は水素添加レシチンの働きにより、それら安定化剤を何れも含まない場合と異なり、活性ペプチドに二量体化等の変性を実質的に起こさせることなくそのまま粉末化することが可能となる。このため、本発明によれば、製造過程における二量体等の変性ペプチドの発生を防止した、純度の高い活性ペプチドを含有した粉末製剤を得ることができる。

【0011】

上記の非イオン界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、又は水素添加レシチンは、活性ペプチドに対する安定化剤として働く。これらの何れか一方又は両方を、活性ペプチドを含有する水性液体に含有させておくことにより、これらの安定化剤を含有させなかった場合に比して、該水性液体を乾燥させて粉末化する工程における活性ペプチドの安定性を飛躍的に改善して、二量体等の変性ペプチドの発生を抑制することができる。

【0012】

これら安定化剤は、上記範囲からある程度外れてもかなりの効果を有するが、上記範囲内では効果は顕著である。非イオン性界面活性剤の更に好ましい濃度範囲は0.05～0.3重量%であり、この範囲では取り分け強い安定化効果が得られる。水溶性の非イオン性有機結合剤については、上記より更に好まし濃度範囲は0.02～0.5重量%であり、この範囲では取り分け強い安定化効果が得られる。また、水素添加レシチンについては、0.01重量%でも既に特に顕著な効果が得られ、0.5～1重量%にかけて効果のピークがあるが、この範囲を超えて2重量%でも著しい効果が維持されており、ピーク濃度を超えての濃度上昇に対する効果の低下はごく緩やかである。従って、水素添加レシチンについては実質的な安定化効果のなくなる上限濃度は明らかでないが、添加剤として十分な効果がある限り無闇に多量に水素添加レシチンを添加する必要はないから、濃度は製剤の製造時の取り扱い易さなどを考慮して、適宜定めればよい。通常は、水素添加レシチンの好ましい濃度は、0.005～4重量%程度の範囲であり、更に好ましくは0.01～2重量%の範囲である。これら3種類の安定化剤は、何れか単独で用いてもよく、何れか2種類又は3種類を併用してもよい。併用した場合、何れかを単独で用いるよりも更に優れた安定化効果が得られ、二量体等の変性ペプチドの発生をほぼ完全に防止することも可能となる。

【0013】

ここに、該水溶性の非イオン性有機結合剤は、ポリビニルピロリドン、水溶性の非イオン性セルロース誘導体及びポリビニルアルコールよりなる群より選ばれるものであることが、更に好ましい。

【0014】

また、該水溶性の非イオン性セルロース誘導体は、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース及びヒドロキシプロピルメチルセルロースよりなる群より選ばれるものであることが更に好ましい。

【0015】

また、該非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油及びポリキサマー（ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー：Pluronic）よりなる群より選ばれるものであることが更に好ましい。

【0016】

本発明は、水性液体を乾燥させるに際して活性ペプチドの安定化効果を発揮することの判明した所定の化合物を用いるものであり、それら所定の化合物は具体的な種々の乾燥方式において用いることができる。上記において、水性液体の乾燥方法の例としては、噴霧乾燥、凍結乾燥、噴霧凍結乾燥が挙げられ、更には、流動層造粒、またコア粒子表面上へのコーティングを行うことのできる、例えば流動層コーティングを含む種々のコーティング、コア粒子表面上へのコーティング又は担持を伴う流動層造粒に際して造粒と同時に達成される乾燥が挙げられるが、これらの方法に限定されない。

【0017】

本発明において、安定化の対象となる活性ペプチドの例としては、カルシトニン類、インスリン類、成長ホルモン類、ソマトスタチン、ソマトスタチン誘導体、インターフェロン（ α 型、 β 型、又は γ 型）、インターロイキン（I、II、III、IV、V、VI、又はVII）スーパーオキシドジスムターゼ、ウロキナーゼ、プロテアーゼ、腫瘍壊死因子、コロニー形成刺激因子、カリクレイン、リゾチーム及びフィブ्रोネクチン、並びに、インスリン様増殖因子、上皮増殖因子、繊維芽細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、神経成長因子、肝細胞増殖因子、血管新生因子及び血管新生阻害因子等、各種の細胞増殖・分化を調節する因子等が挙げられる。活性ペプチドは、化学的には複数のアミノ酸がペプチド結合によって連結したという共通の構造を有しており、従って、本発明は、上記以外にも広範な種々の活性ペプチドに適用可能である。また、それらのペプチドが天然のものか遺伝子

組換えにより製造されたものかは問わない。

【0018】

【発明の実施の形態】

本発明において、「活性ペプチドを含有する水性液体」とは、活性ペプチド水溶液そのもののみならず、これに更に、活性ペプチドの安定性に悪影響を及ぼさない他の成分、例えば、リン酸塩等の緩衝剤、薬剤学的に許容し得る塩化ナトリウム等の塩類やマンニトール、ソルビトール等の増量剤を含有するものも含む。

また、本発明は、水性液体に溶解した状態の活性ペプチドを、水性液体中の水分等が蒸発する過程で活性ペプチドを安定化できるものであるから、活性ペプチドに対して化学的に不活性な例えば乳糖等の微粒子の表面にコーティングさせた形で乾燥させても、活性ペプチドの安定化には影響を与えない。そのような不活性な微粒子は、安定化剤と混ざり合った活性ペプチドを表面上にコーティングされた形で担持するコアとして働くことができる。

【0019】

【実施例】

以下、比較例及び実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明するが、本発明がこれらの実施例に限定されることは意図しない。

以下の比較例及び実施例においては、活性ペプチドの代表例として組換えヒト成長ホルモン（r-hGH）を用いた。またこの組換えヒト成長ホルモンとしては、医薬製品である（グロウジェクト注4IU：日本ケミカルリサーチ株式会社）を用いた。グロウジェクト注4IUの組成は次の通りである。

【0020】

r-hGH注射剤（グロウジェクト注4IU）：

r-hGH・・・・・・・・・・4 IU (1.7mg)

リン酸水素ナトリウム・・・・・・・・2.2 mg

リン酸二水素ナトリウム・・・・・・・・0.35 mg

塩化ナトリウム・・・・・・・・1.0 mg

D-マンニトール・・・・・・・・20.0 mg

【0021】

また、活性ペプチドを含有する水性液体の乾燥のための代表例として、噴霧乾燥をモデルとして用いて行った試験を示す。噴霧乾燥には用いた装置は、Splay Dryer SD-1000 (EYELA社)である。

【0022】

活性ペプチド r-hGH の安定性の指標としては、活性ペプチドの安定化の最もよい指標と考えられる活性ペプチド単量体の残存率を用いた。残存率の算出は、乾燥前の水性液体中（噴霧乾燥処理前）の活性ペプチド濃度と、粉末化したもの（噴霧乾燥処理品）をもとの液量へと復元した溶液中の活性ペプチドの残存率に基づき、次式に従って行った。

$$\text{活性ペプチド単量体残存率 (\%)} = A_P / A_I \times 100$$

ここに：

A_P = 噴霧乾燥処理品の HPLC における単量体ピーク面積

A_I = 噴霧乾燥処理前の HPLC における単量体ピーク面積

【0023】

<比較例1>

r-hGH 注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアル15本にそれぞれ精製水1.0mlを加え、注射剤を完全に溶解させた。得られた r-hGH 溶液（15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。Splay Dryer SD-1000における噴霧乾燥条件は次の通りとした。

（噴霧乾燥条件）

入口温度： 80℃

噴霧圧： 150 kPa

乾燥空気量： 0.3m³/分

送液ポンプ流量： 2.6ml/分

【0024】

また、単量体の測定のための HPLC 条件は次の通りである。

（HPLC 条件）

装置： LC10A（島津製作所）

検出器： UV (280nm)

分析カラム： TSK G3000SW_{XL}

カラム温度： 室温

移動相： 50mMリン酸二水素ナトリウム、50mMリン酸水素ナトリウム、0.2M塩化ナトリウム

流速： 0.6ml/分

注入量： 50 μ l

【0025】

<比較例2>

r-hGH注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアルを15本ずつ5セット用意し、それぞれ精製水1.0mlを加え、注射剤を完全に溶解させた。得られたr-hGH溶液（各セット15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。Splay Dryer SD-1000における噴霧乾燥条件は、比較例1と異なり、次の通りとした。なお、単量体の測定のためのHPLC条件は、比較例1と同一とした。

（噴霧乾燥条件）

入口温度： 90℃

噴霧圧： 100kPa

乾燥空気量： 0.2m³/分

送液ポンプ流量： 2.6ml/分

【0026】

<実施例1>

非イオン性界面活性剤水溶液として、異なった濃度のTween 20水溶液（濃度：0.01、0.05、0.1、0.5、1.0及び2.0w/w%）を調製した。各濃度のTween 20水溶液に対してr-hGH注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアルを15本ずつ用意し、各濃度のTween 20水溶液をそれに対応する15本のバイアルに1.0mlずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各Tween 20濃度のr-hGH溶液（各Tween 20濃度につき15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及びHPLC条件は比較例1と同一とした。

【 0 0 2 7 】

< 実施例 2 >

非イオン性界面活性剤水溶液として、異なった濃度の HCO-60 (ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 60) 水溶液 (濃度: 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 及び 2.0 w/w %) を調製した。各濃度の HCO-60 水溶液に対して r-hGH 注射剤 (グロウジェクト注 4IU) のバイアルを 15 本ずつ用意し、各濃度の HCO-60 水溶液をそれに対応する 15 本のバイアルに 1.0 ml ずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各 HCO-60 濃度の r-hGH 溶液 (各 HCO-60 濃度につき 15 バイアル分: 15.0 ml) を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及び HPLC 条件は比較例 1 と同一とした。

【 0 0 2 8 】

< 実施例 3 >

非イオン性界面活性剤水溶液として、異なった濃度の Pluronic F68 (ポリオキシエチレン (160) ポリオキシプロピレン (30) グリコール) 水溶液 (濃度: 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 及び 2.0 w/w %) を調製した。各濃度の Pluronic F68 水溶液に対して r-hGH 注射剤 (グロウジェクト注 4IU) のバイアルを 15 本ずつ用意し、各濃度の Pluronic F68 水溶液をそれに対応する 15 本のバイアルに 1.0 ml ずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各 Pluronic F68 濃度の r-hGH 溶液 (各 Pluronic F68 濃度につき 15 バイアル分: 15.0 ml) を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及び HPLC 条件は比較例 1 と同一とした。

【 0 0 2 9 】

< 実施例 4 >

水溶性の非イオン性有機結合剤水溶液として、異なった濃度の Kollidone 17PF (ポリビニルピロリドン: BASF) 水溶液 (濃度: 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0 及び 2.0 w/w %) を調製した。各濃度の Kollidone 17PF 水溶液に対して r-hGH 注射剤 (グロウジェクト注 4IU) のバイアルを 15 本ずつ用意し、各濃度の Kollidone 17PF 水溶液をそれに対応する 15 本のバイアルに 1.0 ml ずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各 Kollidone 17PF 濃度の r-hGH

溶液（各Kollidone 17PF濃度につき15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及びHPLC条件は比較例1と同一とした。

【0030】

<実施例5>

水溶性の非イオン性有機結合剤として、異なった濃度のKollidone 12PF（ポリビニルピロリドン：BASF）水溶液（濃度：0.01、0.05、0.1、0.5、1.0及び2.0w/w%）を調製した。各濃度のKollidone 12PF水溶液に対してr-hGH注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアルを15本ずつ用意し、各濃度のKollidone 12PF水溶液をそれに対応する15本のバイアルに1.0mlずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各Kollidone 12PF濃度のr-hGH溶液（各Kollidone 12PF濃度につき15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及びHPLC条件は比較例1と同一とした。

【0031】

<実施例6>

水溶性の非イオン性有機結合剤として、異なった濃度のHPC-SSL（ヒドロキシプロピルセルロース：東洋曹達株式会社）水溶液（濃度：0.01、0.05、0.1、0.5及び1.0w/w%）を調製した。各濃度のHPC-SSL水溶液に対してr-hGH注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアルを15本ずつ用意し、各濃度のHPC-SSL水溶液をそれに対応する15本のバイアルに1.0mlずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各HPC-SSL濃度のr-hGH溶液（各HPC-SSL濃度につき15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及びHPLC条件は比較例1と同一とした。

【0032】

<実施例7>

非イオン性界面活性剤水溶液として、異なった濃度のレシノールS-10E（水素添加レシチン：日光ケミカルズ株式会社）水溶液（濃度：0.01、0.05、0.1、0.5、1.0及び2.0w/w%）を調製した。各濃度の水素添加レシチン水溶液に対してr-hGH注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアルを15本ずつ用意し、各濃度の水素添加レシチン水溶液をそれに対応する15本のバイアルに1.0mlずつ加

えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各水素添加レシチン濃度の r-hGH 溶液（各水素添加レシチン濃度につき15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件及びHPLC条件は比較例1と同一とした。

【0033】

<実施例8>

HPC-SSL（ヒドロキシプロピルセルロース）と各非イオン性界面活性剤とを次の表に示した組み合わせで同時に含有する各水溶液を調製した。

【表1】

水溶液No.	HPC-SSL濃度 (w/w%)	非イオン性界面活性剤及び濃度 (w/w%)
A	0.05	HCO-60 0.05
B	0.05	Pluronic F68 0.05
C	0.05	Pluronic F68 0.10
D	0.10	HCO-60 0.05
E	0.10	HCO-60 0.10

各組み合わせでHPC-SSL及び非イオン性界面活性剤を含有する水溶液の各々に対して r-hGH 注射剤（グロウジェクト注4IU）のバイアルを15本ずつ5セット用意し、各水溶液をそれに対応する各セット15本のバイアルに1.0mlずつ加えて、注射剤を完全に溶解させた。こうして得られた、各 r-hGH 溶液（各組み合わせにつき各セット15バイアル分：15.0ml）を噴霧乾燥し、乾燥粉末を得た。噴霧乾燥条件は比較例2と同一とし、HPLC条件は比較例1と同一とした。

【0034】

<測定結果>

比較例1及び実施例1～3につき、HPLC測定結果を図1に示す。

図に見られるように、ある濃度範囲の非イオン性界面活性剤の濃度は、水溶液

から粉末化する過程における活性ペプチド $r-hGH$ の単量体残存率を、著しく改善した。すなわち、非イオン性界面活性剤を含有しない比較例 1 では、粉末化の前後で $r-hGH$ の単量体は 40% 台にまで減少しているのとは対照的に、実施例 1～3 の製剤のうち、水溶液中 0.01～0.5 w/w% までの濃度に非イオン性界面活性剤を含有させておいたものでは、 $r-hGH$ の単量体が遙かに高い残存率を以て維持されている。また、図より、安定化のピークは非イオン性界面活性剤濃度 0.1 w/w% 付近にあることが分かる。また実測点はないものの、例えば非イオン性界面活性剤の濃度 0.3 w/w% 付近では、0.5 w/w% の点より更に高い安定化効果のあることは明らかである。

【0035】

比較例 1 及び実施例 4～6 につき、HPLC 測定結果を図 2 に示す。

図に見られるように、水溶性の非イオン性有機結合剤は、水溶液から粉末化する過程における活性ペプチド $r-hGH$ の単量体残存率を、大きく改善した。実施例 4 (Kollidone 17PF) 及び 5 (Kollidone 12PF) については試験した何れの濃度でも改善が見られ、特に 1 w/w% までの濃度において安定化効果が強く、また効果のピークは、濃度 0.1 w/w% の点に認められた。実施例 6 (ヒドロキシプロピルセルローズ) については、安定化効果は他のものに比しても更に顕著であり、その効果がピークとなる濃度である 0.1 w/w% においては、 $r-hGH$ は約 95% の残存率を示した。この実施例においては、ヒドロキシプロピルセルローズ濃度として 1 w/w% までしか試験を行っていないが、1 w/w% の濃度において実施例 4 及び 5 における同濃度での安定化効果より遙かに高く、ピーク点を越えた濃度の上昇に伴う効果の減退傾向も実施例 4 及び 5 についてのグラフに比して特段に大きくはないことから、2 w/w% でも安定化効果が見られるであろうことはほぼ明らかである。

【0036】

比較例 1 及び実施例 7 につき、HPLC 測定結果を図 3 に示す。

図に見られるように、実施例 7 で用いた水素添加レシチンは、試験した 2 w/w% までの何れの濃度でも、 $r-hGH$ に対して著しく強い安定化効果を示した。特に、水素添加レシチンの安定化効果は、試験した最低濃度 0.01 w/w% にお

いても $r-hGH$ 残存率で70%を超えており、この濃度を超えて0.2w/w%までの範囲では、更に高い安定化効果を示している。また効果のピークは、図より0.5~1w/w%付近にあるものと思われるが、ピークを超えても効果の減退傾向は小さく、試験した範囲より遙かに広い範囲で顕著な安定化効果を有することは明らかである。

【0037】

比較例2及び実施例8につき、HPLC測定結果を次の表2に示す。

【表2】

水溶液No.	HPC-SSL濃度 (w/w%)	非イオン性界面活性剤 及び濃度 (w/w%)	単量体残存率 (%)
比較例2	—	—	64.04±1.30
実施例8 A	0.05	HCO-60 0.05	99.20±1.16
実施例8 B	0.05	Pluronic F68 0.05	98.42±0.61
実施例8 C	0.05	Pluronic F68 0.10	97.96±1.34
実施例8 D	0.10	HCO-60 0.05	104.76±0.68
実施例8 E	0.10	HCO-60 0.10	104.81±0.17

n = 5、平均±標準偏差
n = 5、平均±標準偏差

【0038】

表2に見られるように、水溶液から粉末化する過程においてヒドロキシプロピルセルロースと非イオン性界面活性剤の双方を水溶液中に含有させておくことにより、 $r-hGH$ は実質上に完全に安定化された。このことは、水溶性の非イオン性有機結合剤ヒドロキシプロピルセルロースと非イオン性界面活性剤を併用することにより、これらの何れかを単独で用した場合よりも更に高い安定化効果が得られることを示している。

【0039】

上記の比較例1、2及び実施例1~8についての結果が示すように、活性ペプチド $r-hGH$ 含有の水溶液から粉末化する際の活性ペプチドの安定性は、ポリ

ソルベート、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油及びポリキサマー等に代表される非イオン性界面活性剤、ヒドロキシプロピルセルロース及びポリビニルピロリドンに代表される水溶性の非イオン性有機結合剤、又は水素添加レシチンを、活性ペプチド水溶液中に添加しておくことにより、顕著に改善される。また、これらの成分を組み合わせることで、活性ペプチドの安定化は更に改善され、ほぼ完全な安定化が達成できる。

【0040】

【発明の効果】

本発明は、活性ペプチドを含有する水性液体を乾燥して粉末化するに際して、活性ペプチドの安定性を著しく高め、粉末化工程での活性ペプチドの損失を最小限に止めることを可能にする。また、医薬品成分としての安全性の確立されている添加剤を用いてこれを行うことができるため、本発明は、添加剤面から製品の安全性に余分な懸念を引き起こすことなしに、活性ペプチドを安定に維持したままの粉末製剤の製造を可能にする。またこれにより、本発明は、二量体等の変性ペプチドの含有を極力減らした活性ペプチド粉末製剤の提供を可能にし、経鼻、経肺製剤等、粘膜に粉末の形で直接適用することにより循環血中に薬物を投与するタイプの製剤の製造を容易にする。

【図面の簡単な説明】

【図1】 非イオン性界面活性剤の効果を示すグラフ。

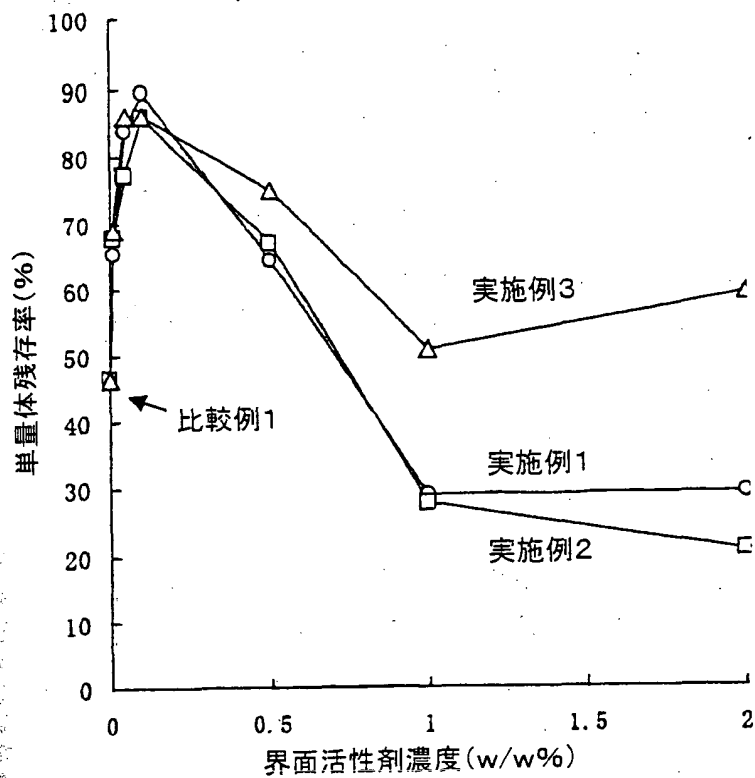
【図2】 水溶性の非イオン性有機結合剤の効果を示すグラフ。

【図3】 水素添加レシチンの効果を示すグラフ。

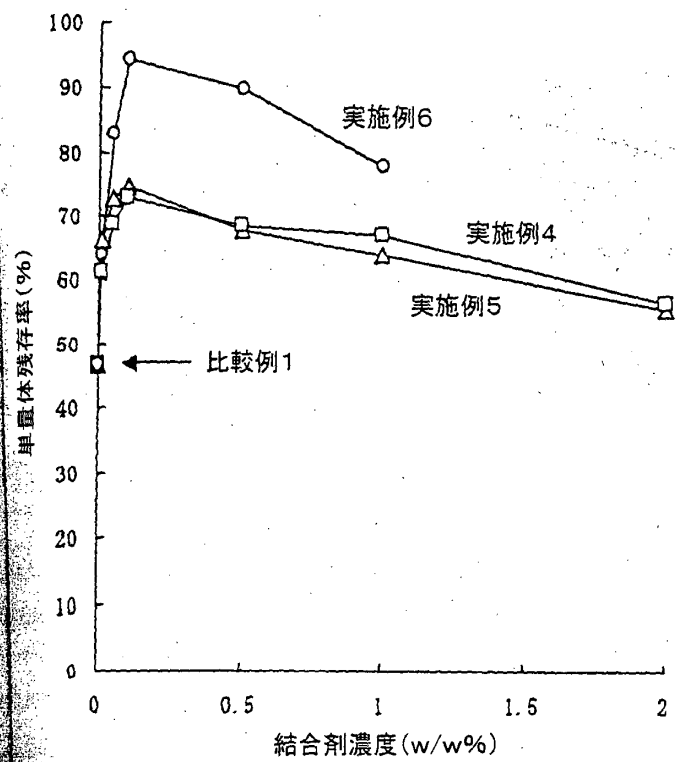
【書類名】

図面

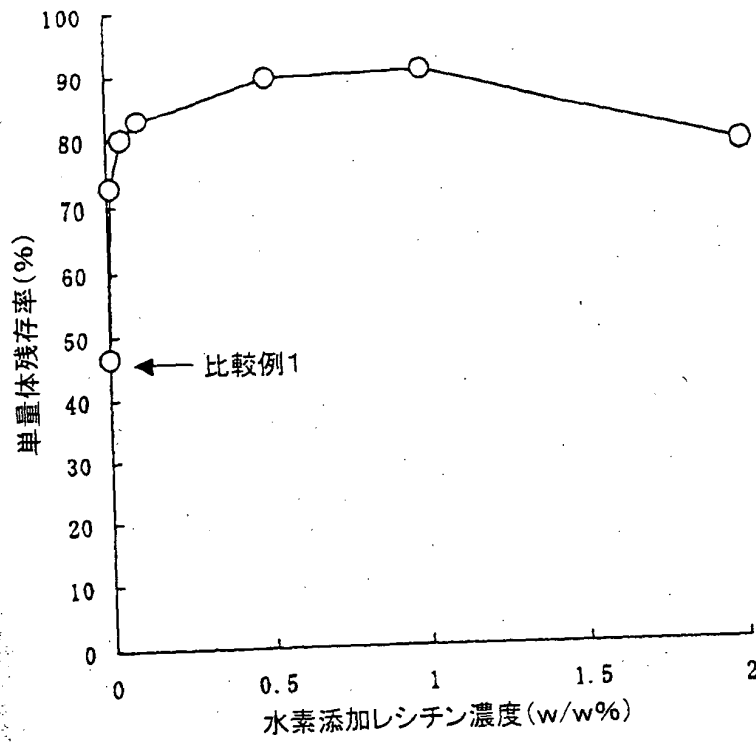
【図 1】



【図2】



【図3】



【書類名】

要約書

【要約】

【課題】 活性ペプチドを含有する水性液体を乾燥させて粉末化する工程において活性ペプチドの安定性を改善して、二量体等の変性ペプチドを含まない粉末製剤を提供すること。

【解決手段】 活性ペプチドを含有する水性液体に、非イオン性界面活性剤、水溶性の非イオン性有機結合剤、及び／又は水素添加レシチンを含有させ、該水性液体を乾燥させる工程を経て得られる、活性ペプチド含有の粉末製剤。

【選択図】 なし

特2000-078775

認定・付加情報

特許出願の番号
受付番号
書類名
担当官
作成日

特願2000-078775
50000340005
特許願
第三担当上席 0092
平成12年 3月22日

<認定情報・付加情報>
【提出日】

平成12年 3月21日

次頁無

出証特2001-3013320